Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.1, Spring 2021, P. 63-71
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰، ص. ۷۱-۶۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله پژوهشی

اثر شوک گرما بر تحمل سرمازدگی نشاء خربزه خاتونی (*Cucumis melo* L.)

فردین قنبری[۱]*- سعداله اکبری[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۰

چکیده

خربزه همانند سایر کدوئیان حساس به سرما است و در دمای پایین آسیب می‌بینند. در این تحقیق امکان افزایش تحمل تنش سرما در نشاء خربزه با استفاده از شوک گرمایی بررسی شده است. در مرحله دو برگ کاملاً توسعه یافته، نشاءهای خربزه در معرض شوک دمایی (شامل شاهد و محلول‌پاشی با آب در دماهای ۲۰، ۴۵، ۵۰ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. یک روز پس از آن نشاءها در شرایط تنش سرما (دمای ۳ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۶ ساعت نگهداری شدند. نتایج نشان داد که نشاءهای پیش تیمار شده در پایان دوره سرما میزان رشد بالاتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند. پیش تیمار گرمایی سبب افزایش محتوای کلروفیل، پرولین و پراکسید هیدروژن شد و میزان مالون دی آلدهید را نسبت به شاهد کاهش داد. همچنین شوک گرمایی فعالیت آنزیم پراکسیداز را افزایش و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را کاهش داد و در نتیجه آن تحمل شرایط تنش توسط گیاه افزایش یافت. به طور کلی نتایج نشان داد که شوک گرمایی (به خصوص دمای ۵۰ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد) سبب تغییرات فیزیولوژیکی مثبت در گیاه شده و می‌تواند تحمل شرایط تنش سرما در نشا خربزه را بالا ببرد.

واژه‌های کلیدی: پراکسید هیدروژن، پراکسیداز، پرولین، پلی فنل اکسیداز، مالون دی آلدهید

مقدمه

خربزه (*Cucumis melo* L.) یکی از مهمترین گیاهان جالیزی ایران می‌باشد، که با دارا بودن ارقام و توده‌های بسیار متنوع، دامنه گسترش زیادی داشته و در بسیاری از مناطق ایران پرورش می‌یابد. بر اساس آمار موجود کشور ایران با تولید بیش از چهار میلیون تن خربزه در سال ۲۰۱۷ پس از کشور چین، دومین تولید کننده عمده این محصول در دنیا می‌باشد (۱۰). خربزه همانند سایر کدوئیان به تنش سرما حساس می‌باشد و سرما در اوایل فصل رشد در مرحله نشاء سبب خسارت به این محصول می‌شود. تنش سرمایی از مهم‌ترین فاکتورهای محیطی محدودکننده تولید محصولات کشاورزی در مناطق معتدله می‌باشد که اثر عمده‌ای بر توزیع جغرافیایی و عملکرد گیاهان دارد (۴). تنش سرمایی در دمای کمتر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد اتفاق می‌افتد و بیش از ۵۰ درصد زمین‌های کشاورزی دنیا در معرض این تنش قرار دارند (۶). سرما در طی جوانه زنی و رشد اولیه گیاه باعث کاهش رشد، به تاخیر انداختن زمان برداشت و در موارد شدید موجب از بین رفتن کل محصول می‌گردد (۷ و ۱۳).

تغییر شرایط تولید در خزانه می‌تواند درجاتی از مقاومت به تنش های محیطی در نشاء را به وجود آورد. در واقع، اعمال شرایط تنش بر روی گیاهان ممکن است سبب مقاومت آنها به تنش‌های بعدی شود، به این پدیده مقاومت تقاطعی[۳] گفته می‌شود (۱۵). در این راستا، تیمار گرمایی در دوره پس از برداشت برای افزایش تحمل سرمایی میوه‌ها و سبزی‌ها در طی انبارداری استفاده شده است (۱) ولی اطلاعات اندکی از تاثیر این تیمار بر گیاهان در شرایط تنش موجود است. ویتاکر (۳۳) نشان داد که خسارت تنش سرما می‌تواند به‌وسیله پیش تیمار دمایی کاهش یابد. پس‌ازآن از این تکنیک برای بهبود تحمل تنش در گیاهان مختلف استفاده شد. لی و همکاران (۲۴) با بررسی پیش تیمار دمایی یک درجه سانتی‌گراد به مدت چهار ساعت گزارش کردند که شوک کوتاه مدت نشاءهای سه روزه ذرت در دمای یک درجه سانتی‌گراد سبب افزایش تحمل سرمایی نشاءها در مراحل بعد شد. حسین و همکاران (۱۶) گزارش کردند که شوک گرمایی در نشاء کلم با بهبود سیستم آنتی اکسیدانی سبب افزایش تحمل تنش‌های شوری و خشکی در گیاه شد. شوک گرمایی (۳۳ درجه سانتی‌گراد در زمان‌های مختلف) در گیاه گندم تحت تنش شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم-

۱ و ۲- به‌ترتیب استادیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: f.ghanbari@ilam.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhorts4.v35i1.86372

3- Cross- resistance

های آنتی اکسیدان شده و از این طریق تحمل شرایط تنش در گیاه افزایش یافت (۲۳). با توجه به موارد شرح داده شده، در این تحقیق اثر تیمار گرمایی بر تحمل تنش سرما در نشاء خربزه و برخی پاسخ-های فیزیولوژیک مرتبط با آن مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش از تاریخ ۲۴ فروردین تا ۳۰ خرداد سال ۱۳۹۸ در گلخانه و آزمایشگاه‌های تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام انجام شد. ابتدا بذرهای خربزه رقم 'خاتونی' در محیط کشت پرلایت و کوکوپیت (به‌ترتیب نسبت ۱ به ۲) کشت شده و در گلخانه با پوشش فایبرگلاس و دمای روزانه ۳±۲۴ و شبانه ۳±۱۷ درجه سانتی‌گراد و نور طبیعی پرورش یافت. برای جلوگیری از کمبود عناصر غذایی آبیاری نشاءها به صورت روزانه تا پایان دوره آزمایش با استفاده از غلظت یک در هزار کود کامل انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار شامل: بدون تیمار (شاهد)، دمای ۲۰، ۴۵، ۵۰ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد و سه تکرار انجام شد. تیمارهای دمایی در مرحله دو برگ کاملاً توسعه یافته به صورت محلول‌پاشی با آب‌پاش دستی به مدت ۹۰ ثانیه در دماهای ذکر شده اعمال شد. پس از اعمال سطوح مختلف تیمار دمایی، همه گیاهچه‌ها به مدت ۲۴ ساعت به گلخانه (دمای روزانه ۳±۲۴ و شبانه ۳±۱۷ درجه سانتی‌گراد و نور طبیعی) برای بازیابی منتقل شده و پس از آن تحت شرایط تنش سرما قرار گرفتند. برای اعمال تنش سرما گیاهچه‌ها به اتاقک رشد با دمای سه درجه سانتی‌گراد به مدت شش ساعت (۸ صبح تا ۱۴ بعد از ظهر) در شش روز متوالی منتقل شدند. در پایان تنش سرمایی روزانه، گیاهچه‌ها به گلخانه با شرایط ذکر شده در بالا منتقل گردیدند. پس از پایان تیمار سرمایی همه نشاءها به گلخانه منتقل شده و پس از ۷۲ ساعت اندازه‌گیری صفات انجام گرفت (۷).

ارتفاع گیاه با استفاده از خط‌کش و قطر ساقه در سطح خاک با استفاده از کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد. وزن تر و خشک شاخساره (دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در آون) با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت برگ با استفاده از ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد و سپس با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. یک میلی‌لیتر از محلول رویی با چهار میلی لیتر استون مخلوط گردید. جذب محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر خوانده شد و با استفاده از رابطه زیر میزان کلروفیل کل محاسبه شد (۳۱).

$$Chl\ total=20.21(A_{645}) + 8.02(A_{663})$$

برای اندازه‌گیری میزان پرولین از روش بیتس و همکاران (۸) استفاده شد. همچنین میزان مالون دی آلدهید با استفاده از معرف تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شد (۳۰). با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پراکسید هیدروژن بر اساس روش آلکسیوا و همکاران (۲) محاسبه شد (۲).

۲۰۰ میلی‌گرم برگ در هاون چینی سرد (هاون روی یخ) با استفاده از دو میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار که دارای پلی وینیل پیرولیدون[1] یک درصد و EDTA[2] یک میلی‌مولار بود ساییده شد. سپس عصاره‌ها به تیوب منتقل شده و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. از عصاره حاصل برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پر اکسیداز و پلی فنل اکسیداز استفاده شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD, EC 1.11.1.7) بر اساس روش پلوا و همکاران (۲۸) و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بر اساس روش کار و میشرا (۲۱) اندازه‌گیری شد و بر اساس واحد آنزیمی به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS-9.1 تجزیه آماری شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

پارامترهای رشدی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار بر ارتفاع گیاه در سطح احتمال پنج درصد و بر قطر ساقه، وزن تر و وزن خشک شاخساره در سطح احتمال یک درصد از لحاظ آماری معنی‌دار شدند (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تیمارهای دمایی ۵۰ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش ارتفاع گیاه نسبت به شاهد شده و تیمار ۴۵ درجه سانتی‌گراد تاثیر معنی‌داری بر این صفت نداشت. از طرف دیگر، تیمارهای ۴۵، ۵۰ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش معنی‌دار قطر ساقه، وزن تر و خشک شاخساره نسبت به شاهد شد. تیمار دمایی ۲۰ درجه سانتی‌گراد تنها وزن تر شاخساره را نسبت به شاهد افزایش داد و تاثیر معنی‌داری بر صفات وزن خشک شاخساره، طول و قطر ساقه نداشت (جدول ۲). به طور مشابه سالتویت (۲۹) گزارش کرد که شوک دمایی (۳۵ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک تا سه دقیقه) سبب افزایش تحمل تنش سرمایی در نشاء برنج شده و میزان رشد آن در شرایط سرما را حفظ کرد. گزارش شده است که در گیاه خیار پیش تیمار دمایی با تغییر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب افزایش تحمل شرایط تنش و حفظ رشد گیاه در این شرایط می‌شود (۲۰). در این راستا گزارش شده است که گیاهان پس از شوک گرمایی با تولید پروتئین‌های خاص به نام پروتئین‌های شوک حرارتی

1- Polyvinylpyrrolidone
2- Ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA)

(HSPs) تحمل خود را به شرایط تنش بالا می‌برند (۱). همچنین شوک حرارتی سبب افزایش تجمع محلول‌های سازگار مانند پرولین شده و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی گیاه برای مواجهه با تنش بعدی را فعال می‌کند (۱۲). این عوامل منجر به تغییراتی در میزان رشد گیاه می‌شود که ممکن است در بهبود عملکرد گیاه در شرایط مزرعه مفید باشد.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی نشاء خربزه پس از پیش‌تیمار شوک گرمایی و تنش سرما

Table 1- ANOVA for morphological traits of melon seedlings after heat shock pretreatment and chilling stress

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	ارتفاع نشاء Seedling height	قطر ساقه Stem diameter	وزن تر شاخساره Shoot fresh weight	وزن خشک شاخساره Shoot dry weight
Treatment تیمار	4	1.76*	11.90**	8.46**	0.258**
خطای آزمایشی Erorr	10	0.46	0.53	0.40	0.003
ضریب تغییرات C.V (%)	-	9.14	7.35	8.43	7.07

* و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد.

* and ** represent significant at 1 and 5% of probability levels, respectively.

جدول ۲- اثر پیش تیمار دمایی بر صفات مورفولوژیکی نشاء خربزه

Table 2- The effect of heat pretreatment on morphological traits of melon seedlings

تیمارها Treatments	ارتفاع نشاء Seedling height (cm)	قطر ساقه Stem diameter (mm)	وزن تر شاخساره Shoot fresh weight (g)	وزن خشک شاخساره Shoot dry weight (g)
Control	6.66^{b}	7.66^{c}	5.30^{d}	0.56^{c}
20ºC	6.66^{b}	8.66^{bc}	6.90^{c}	0.67^{bc}
45ºC	7.66^{ab}	9.33^{b}	7.16^{c}	0.70^{b}
50ºC	8.33^{a}	12.33^{a}	8.46^{b}	1.21^{a}
55ºC	8.00^{a}	11.66^{a}	9.80^{a}	1.13^{a}

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند

Values followed by different letters have significant difference according to Duncan’s Multiple Range Test at $p \leq 0.05$.

کلروفیل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار در سطح احتمال یک درصد بر میزان کلروفیل معنی‌دار شد (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که همه تیمارهای گرمایی سبب افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل نسبت به شاهد شده و بیشترین افزایش در تیمار گرمایی ۵۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. همچنین اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمار ۲۰ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد برای این صفت مشاهده نشد (جدول ۴). کاهش میزان کلروفیل در گیاهان حساس به سرمازدگی یک پدیده رایج بوده و در مطالعات زیادی گزارش شده است (۱۱). در این راستا گزارش شده است که در شرایط تنش، گونه های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) افزایش یافته و منجر به تخریب کلروفیل می‌شوند (۱۵). میزان کلروفیل گیاهان یکی از فاکتورهای مهم و تعیین کننده عملکرد گیاهان بوده و هر فاکتوری که بتواند سبب حفظ کلروفیل در شرایط تنش شود منجر به تحمل بهتر شرایط تنش توسط گیاه می‌گردد. نتایج این تحقیق نشان داد که پیش تیمار گرمایی سبب بهبود کلروفیل شد. به طور مشابه قنبری و کردی (۱۲) گزارش کردند که پیش تیمار دمایی و خشکی با بهبود سیستم آنتی اکسیدانی گیاه سبب افزایش کلروفیل در نشاءهای خیار تحت تنش سرما شد. همچنین گزارش شده است که در شرایط تنش سرما، پیش‌تیمار شوک دمایی سبب افزایش میزان کلروفیل و بهبود پاسخ به شرایط تنش در گیاه می‌شود (۱۹). در تحقیق حاضر نیز شوک دمایی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و محتوای پرولین شده و از این طریق تحمل گیاه را نسبت به تنش سرمایی افزایش داد.

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نشاء خربزه پس از پیش‌تیمار شوک گرمایی و تنش سرما
Table 3- ANOVA for physiological and biochemical traits of melon seedlings after heat shock pretreatment and chilling stress

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل کل Total chlorophyll	پرولین Proline	مالون دی آلدهید Malondialdehyde	پر اکسید هیدروژن Hydrogen peroxide	فعالیت آنزیم پراکسیداز POD activity	فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز PPO activity
تیمار Treatment	4	0.197**	39.25**	0.784**	7.19**	0.958**	14.97**
خطای آزمایشی Erorr	10	0.010	1.57	0.006	0.41	0.064	0.46
ضریب تغییرات C.V (%)	-	7.40	12.03	5.143	11.96	10.97	8.45

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.
** represent significant at 1% of probability level.

جدول ٤- اثر پیش تیمار دمایی بر صفات مورفولوژیکی نشاء خربزه
Table 4- The effect of heat pretreatment on morphological traits of melon seedlings.

تیمارها Treatments	کلروفیل کل Total chlorophyll (mgg^{-1})	پرولین Proline ($\mu g\ g^{-1}$ F.W)	مالون دی آلدهید Malondialdihyde ($nmol\ g^{-1}$ F.W)	پر اکسید هیدروژن Hydrogen peroxide ($nmol\ g^{-1}$ F.W)	فعالیت پراکسیداز POD activity ($U\ mg^{-1}$ Protein)	فعالیت پلی فنل اکسیداز PPO activity ($U\ mg^{-1}$ Protein)
Control	1.10^{c}	7.97^{b}	2.20^{a}	3.66^{c}	1.73^{b}	10.58^{a}
20ºC	1.17^{bc}	6.67^{b}	2.15^{a}	4.36^{bc}	1.70^{b}	9.64^{ab}
45ºC	1.30^{b}	8.95^{b}	1.37^{b}	4.94^{b}	2.93^{a}	8.62^{b}
50ºC	1.71^{a}	14.96^{a}	1.14^{c}	6.90^{a}	2.69^{a}	5.26^{c}
55ºC	1.55^{a}	13.50^{a}	1.24^{bc}	7.14^{a}	2.49^{a}	6.34^{c}

Values followed by different letters have significant difference according to Duncan's Multiple Range Test at $p \leq 0.05$

پرولین

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار در سطح احتمال یک درصد بر محتوای پرولین معنی‌دار شد (جدول ۳). شوک حرارتی ۵۰ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش معنی‌دار پرولین نسبت به شاهد شد. شوک دمایی ۴۵ درجه سانتی‌گراد تاثیر معنی‌داری بر پرولین نسبت به شاهد و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نداشت (جدول ۴). یکی از مهمترین پاسخ‌های گیاه به شرایط تنش تولید برخی ترکیبات سازگار مانند پرولین است که منجر به تنظیم فرآیند اسمزی در گیاهان می‌شود (۱۴). در واقع تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش سبب تحمل بهتر شرایط تنش توسط گیاه می‌شود. علاوه بر تنظیم اسمزی، پرولین در بسیاری از فرآیندها مانند پاک کردن گونه‌های واکنشگر اکسیژن، حفظ پتانسیل ردوکس سلول‌ها و تنظیم کارکرد صحیح انتقال الکترون، غشاهای سلولی و پروتئین‌ها در شرایط تنش نقش دارند (۱۸). کوزنتسوف و همکاران (۲۲) گزارش کردند که پیش تیمار شوک حرارتی (۴۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱/۵ ساعت) با افزایش تولید اسیدهای آمینه و تنظیم اسمزی ناشی از آن سبب افزایش تحمل تنش خشکی در گیاه پنبه شد. آن‌ها بیان کردند که شوک دمایی سبب تحریک مکانیسم‌های فیزیولوژیکی مانند تولید پرولین شده و سازگاری گیاهان را به تنش‌های بعدی منجر می‌شود. همچنین نتایج مثبتی از تاثیر کاربرد خارجی پرولین در افزایش تحمل تنش سرمایی در گیاهان مختلف موجود است که عمدتا ناشی از نقش اسمزی و تنظیم آنتی اکسیدانی پرولین دلالت دارد (۱۴). در مجموع می‌توان گفت که شوک حرارتی با افزایش تجمع محلول‌های سازگار گیاهان را برای مواجهه با شرایط تنش بعدی مهیا می‌کند.

مالون دی آلدهید

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار در سطح احتمال یک درصد بر محتوای مالون دی آلدهید معنی‌دار شد (جدول ۳). شوک دمایی سبب کاهش معنی‌دار مالون دی آلدهید نسبت به شاهد و تیمار دمایی ۲۰ درجه سانتی‌گراد شد. کمترین میزان مالون دی آلدهید (۱/۱۴ نانومول بر گرم وزن تر) در تیمار ۵۰ درجه سانتی گراد مشاهده شد که نسبت به شاهد کاهش ۵۰ درصدی داشت (جدول ۴). همانطوری که ذکر شد در شرایط تنش سرمایی تولید رادیکال‌های آزاد افزایش یافته و سبب آسیب به غشاهای سلولی می

شوند. در نتیجه این رخداد میزان نشت مواد از سلول افـزایش یافتـه و همچنـین میـزان پراکسیداسـیون لیپیـدهای غشـا افـزایش مـی‌یابـد. محتوای مالون دی آلدهید معیاری از پراکسیداسیون لیپیـدهای غشـا می‌باشد و اندازه گیری آن ملاکی از آسیب به گیاهان در شرایط تنش قلمداد می‌شود (۳). در تحقیق حاضـر شـوک گرمـایی سـبب کـاهش تجمع مالون دی آلدهید نسبت به شاهد شد که نشاندهنده کاهش آثار سرما بر گیاه می‌باشد. به طور مشابه با این نتایج، گانـگ و همکـاران (۱۳) گزارش دادند که شوک دمایی با کاهش آسیب بـه غشـا سـلولی سبب تحمل بهتر شرایط تنش در گیـاه ذرت شـد کـه بـا نتـایج ایـن تحقیق همخوانی دارد. همچنین می و سـانگ (۲۷) بـا بررسـی تـأثیر پیش تیمار دمایی بر افزایش تحمل به تنش دمـای بـالا در گیـاه جـو گزارش دادند که استفاده از این روش با تحریک سنتز آنزیم‌های آنتی اکسیدان سبب جلوگیری از افزایش مالون دی آلدهید در گیـاه تحـت تنش دمایی می‌شود. گزارش شده است که کاهش مالون دی آلدهیـد موجب پایداری بیشتر غشاهای سلولی شده و منجر به افزایش تحمـل تنش در گیاهان می‌گردد (۲۵). بنابراین، حفظ ساختار غشـا و کـاهش تجمع مالون دی آلدهید در نشاء خربزه در شرایط سرما نشـان دهنـده بهبود پاسخ‌های دفاعی گیاه ایجاد شده به وسیله شوک حرارتـی مـی باشد.

پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشـان داد کـه اثـر تیمـار در سـطح احتمال یک درصد بر محتـوای پراکسـید هیـدروژن و فعالیـت آنـزیم پراکسیداز معنی‌دار شد (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌هـا نشـان داد که همه تیمارهای شوک گرمـایی (۴۵، ۵۰ و ۵۵ درجـه سـانتی‌گـراد) سبب افزایش معنی‌دار پراکسـید هیـدروژن نسـبت بـه شـاهد شـدند. کمترین محتوای پراکسید هیدروژن (۳/۶۶ نانومول بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد و بیشترین آن (۷/۱۴ نانومول بر گـرم وزن تـر) در تیمـار دمایی ۵۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. از طرف دیگر شوک حرارتـی سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شـاهد شـد و بیشترین فعالیت این آنزیم (۲/۹۳ واحد آنزیمی بر میلی‌گـرم پـروتئین) در تیمار دمایی ۴۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شـد کـه البتـه اخـتلاف آماری معنـی‌داری بـا سـطوح دیگـر تیمـار گرمـایی (۵۰ و ۵۵ درجـه سانتی‌گراد) نداشت.

تنش‌های محیطی و از جمله تـنش سـرمایی بـا تولیـد پراکسـید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد دیگر منجر به تنش اکسیداتیو شده و بـه سلول‌های گیاهی آسیب می‌رسانند (۲۷). پراکسید هیدروژن تولید شده در ایـن شـرایط مسـتقیماً بـه وسـیله آنـزیم کاتـالاز و یـا بـه کمـک احیاگرهای همکار مانند آسـکوربات پراکسـیداز، پراکسـی ردوکسـین، گلوتاتیون پراکسیداز و گروه‌های گایاکول پراکسیداز تجزیه شود (۱۵). بنابراین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسـیدان در گیاهـان یکـی از مهمترین مکانیسم‌های گیاه برای مقابله با شرایط تنش است (۲۷). در تحقیق حاضر پیش تیمار شوک دمایی سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز شده و میزان پراکسید هیدروژن را افزایش داد. در این راستا گزارش شده است که پراکسید هیدروژن نقش دوگانه در گیاهان دارد. در غلظت‌های پایین به‌عنوان یک سیگنال سـبب بیـان ژن‌هـای کد کننده آنزیم‌های آنتـی‌اکسـیدان و پـروتئین‌هـای شـوک حرارتـی می‌شود (۱۵). در غلظت بالا منجر به آسیب اکسیداتیو و مرگ برنامـه ریزه شده سلول‌ها می‌گردد (۹). گزارش شده اسـت کـه پـیش تیمـار دمایی سبب افـزایش فعالیـت آنـزیم‌هـای آنتـی‌اکسـیدان و محتـوای گلوتاتیون و آسکوربات گیاه می‌شود و از این طریـق تحمـل سـرمایی گیاه افزایش می‌یابد (۵). چائو و همکاران (۹) نشان دادند که افـزایش تولید پراکسید هیدروژن در اثر تیمار شوک دمایی منجر به تحمل بهتر شرایط تنش در گیاه برنج می‌شود. پیش تیمار شوک دمایی (۴۲ درجه سانتی‌گراد در مدت ۴ ساعت) به‌طور معنـی‌داری سـبب افـزایش نـرخ زنده‌مانی، کاهش نشت یونی و افزایش پراکسید هیدروژن در دو گونـه ذرت در شرایط تنش سرما شد (۱۳). در این مطالعـه افـزایش تحمـل تنش سرمایی در ارتباط با افزایش سطح پراکسید هیـدروژن بـود کـه نشان می‌دهد افزایش پراکسید هیدروژن یکـی از پـیش‌نیازهـای لازم برای تحمل شرایط تنش در گیاهان می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که سیستم دفاع آنتی اکسـیدانی نقـش ویـژه ای در افـزایش تحمـل گیاهان به شرایط تنش دارد و پراکسید هیـدروژن بـا نقـش سـیگنالی خود تنظیم پاسخ‌های دفاعی گیاه را کنترل می‌کند.

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

نتایج تجزیه واریانش داده‌ها نشـان داد کـه اثـر تیمـار در سـطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم پلـی فنـل اکسـیداز معنـی‌دار شـد (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که شـوک دمـایی سـبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نسبت بـه شـاهد شـد. کمترین فعالیت ایـن آنـزیم در تیمـار دمـایی ۵۵ درجـه سـانتی‌گـراد مشاهده شد که نسبت به شاهد کاهش ۵۰ درصدی داشت. همچنـین تیمار دمایی ۲۰ درجه سانتی‌گراد تاثیر معنی‌داری بر این صفت نسـبت به شاهد نداشت (جدول ۴). آنزیم پلی فنل اکسیداز هیدروکسیلاسیون مونوفنل‌ها به دی فنل‌ها و کوئینون‌ها را کاتالیز می‌کنـد. نتیجـه ایـن واکنش منجر به قهوه‌ای شدن[1] بافت شـده و افـزایش ایـن آنـزیم در شرایط تنش سرما، منجر به حساسیت بیشتر بافت گیاهی بـه شـرایط تنش می‌شود (۳۲). در واقع اگر بتوان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسـیداز را کم یا متوقف کرد تحمل شرایط تنش توسط گیاه افزایش مـی‌یابـد. در این راستا تلاش‌هایی برای کاهش فعالیت این آنـزیم انجـام شـده

1- Browning

است (۱۷). نتایج این تحقیق نیز نشان داد که شوک دمایی سبب کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نسبت به شاهد شد. مارتین دیانا و همکاران (۲۶) گزارش دادند که شوک دمایی ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه با کاهش فعالیت آنزیم‌های مسئول قهوه‌ای شدن بافت مانند پلی فنل اکسیداز سبب تحمل بهتر دمای پایین در کاهو شد. همچنین قنبری و سیاری (۱۱) نشان دادند که پیش تیمار خشکی در نشاءهای گوجه فرنگی فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را کاهش داده و منجر به کاهش علائم سرمازدگی در این گیاه گردید. بنابراین می‌توان یکی از اثرات مثبت تیمار دمایی را کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیدازکه منجر به حساسیت کمتر بافت گیاهی به شرایط تنش می‌شود، در نظر گرفت.

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که شوک دمایی در نشاءهای خربزه سبب افزایش تحمل تنش سرمایی در آنها می‌شود. نشاءهای پیش تیمار شده پس از آنکه در معرض تنش سرما قرار گرفتند، میزان رشد بالاتر، کلروفیل بیشتر و مالون دی آلدهید کمتری نسبت به شاهد نشان دادند. افزایش تحمل تنش سرما به وسیله شوک حرارتی در ارتباط با افزایش پرولین و بهبود سیستم آنتی اکسیدانی و همچنین کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بود. به طور کلی برای کاهش آثار تنش سرما بر نشاء خربزه پیش تیمار گرمایی آن (دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ ثانیه) قبل از کاشت در مزرعه توصیه می‌شود.

منابع

1- Aghdam M.S., and Bodbodak S. 2014. Postharvest heat treatment for mitigation of chilling injury in fruits and vegetables. Food and Bioprocess Technology 7(1): 37-53.

2- Alexieva V., Sergiev I., Mapelli S., and Karanov E. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant, Cell and Environment 24(12): 1337-1344.

3- Ali M.B., Hahn E.J., and Paek K.Y. 2005. Effects of temperature on oxidative stress defense systems, lipid peroxidation and lipoxygenase activity in *Phalaenopsis*. Plant Physiology and Biochemistry 43(3): 213-223.

4- Allen D.J., and Ort D.R. 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. Trends in Plant Science 6(1): 36-42.

5- Ao P.X., Li Z.G., Fan D.M., and Gong M. 2013. Involvement of antioxidant defense system in chill hardening-induced chilling tolerance in *Jatropha curcas* seedlings. Acta Physiologiae Plantarum 35(1): 153-160.

6- Baldi P., Pedron L., Hietala A.M., and La Porta N. 2011. Cold tolerance in cypress (*Cupressus sempervirens* L.): a physiological and molecular study. Tree Genetics & Genomes 7(1): 79-90.

7- Baninasab B. 2009. Amelioration of chilling stress by paclobutrazol in watermelon seedlings. Scientia Horticulture 121: 144-148.

8- Bates L.S., Waldren R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39(1): 205-207.

9- Chao Y.Y., Hsu Y.T., and Kao C.H. 2009. Involvement of glutathione in heat shock–and hydrogen peroxide–induced cadmium tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. Plant and Soil 318: 37-44.

10- FAO. 2015. FAO website. http://faostat.fao.org.

11- Ghanbari F., and Sayyari M. 2018. Controlled drought stress affects the chilling-hardening capacity of tomato seedlings as indicated by changes in phenol metabolisms, antioxidant enzymes activity, osmolytes concentration and abscisic acid accumulation. Scientia Horticulturae 229: 167-174.

12- Ghanbari F., and Kordi S. 2019. Hardening pretreatment by drought and low temperature enhanced chilling stress tolerance of cucumber seedlings. Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus 18: 29-37.

13- Gong M., Chen B.O., Li Z.G., and Guo L.H. 2001. Heat-shock-induced cross adaptation to heat, chilling, drought and salt stress in maize seedlings and involvement of H_2O_2. Journal of Plant Physiology 158(9): 1125-1130.

14- Hayat S., Hayat Q., Alyemeni M.N., Wani A.S., Pichtel J., and Ahmad A. 2012. Role of proline under changing environments: a review. Plant Signaling & Behavior 7(11): 1456-1466.

15- Hossain M.A., Burritt D.J., and Fujita M. 2016. Cross-stress tolerance in plants: molecular mechanisms and possible involvement of reactive oxygen species and methylglyoxal detoxification systems. Abiotic Stress Response in Plants 323-375.

16- Hossain M.A., Mostofa M.G., and Fujita M. 2013. Heat-shock positively modulates oxidative protection of salt and drought-stressed mustard (*Brassica campestris* L.) seedlings. Journal of Plant Science and Molecular Breeding 2(1): 1-14.

17- Jang J.H., and Moon K.D. 2011. Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. Food Chemistry 124(2): 444-449.

18- Janská A., Maršík P., Zelenková S., and Ovesná J. 2010. Cold stress and acclimation–what is important for metabolic adjustment. Plant Biology 12(3): 395-405.

19- Kaewsuksaeng S., Tatmala N., Srilaong V., and Pongprasert N. 2015. Postharvest heat treatment delays chlorophyll degradation and maintains quality in Thai lime (*Citrus aurantifolia* Swingle cv. Paan) fruit. Postharvest Biology and Technology 100: 1-7.
20- Kang H.M., and Saltveit M.E. 2001. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedling radicles. Physiologia Plantarum 113(4): 548-556.
21- Kar M., and Mishra D. 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology 57(2): 315-319.
22- Kuznetsov V.V., Rakitin V.Y., and Zholkevich V.N. 1999. Effects of preliminary heat-shock treatment on accumulation of osmolytes and drought resistance in cotton plants during water deficiency. Physiologia Plantarum 107(4): 399-406.
23- Lei Y.B., Song S.Q., and Fu J.R. 2005. Possible involvement of anti-oxidant enzymes in the cross-tolerance of the germination/growth of wheat seeds to salinity and heat stress. Journal of Integrative Plant Biology 47(10): 1211-1219.
24- Li H.Y., Li C.G., and Gong M. 2011. Short-term cold-shock at 1 C induced chilling tolerance in maize seedlings. International Conference of Biology Environment and Chemistry 1: 346-349.
25- Maali-Amiri R., Goldenkova-Pavlova I.V., Yur'eva N.O., Pchelkin V.P., Tsydendambaev V.D., Vereshchagin A.G., and Nosov A.M. 2007. Lipid fatty acid composition of potato plants transformed with the Δ12-desaturase gene from cyanobacterium. Russian Journal of Plant Physiology 54(5): 600-606.
26- Martin-Diana A.B., Rico D., Barry-Ryan C., Mulcahy J., Frias J., and Henehan G.T. 2005. Effect of heat shock on browning-related enzymes in minimally processed iceberg lettuce and crude extracts. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 69(9): 1677-1685.
27- Mei Y.Q., and Song S.Q. 2010. Response to temperature stress of reactive oxygen species scavenging enzymes in the cross-tolerance of barley seed germination. Journal of Zhejiang University-Science B 11(12): 965-972.
28- Plewa M.J., Smith S.R., and Wagner E.D. 1991. Diethyldithio carbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 247(1): 57-64.
29- Saltveit M.E. 2002. Heat shocks increase the chilling tolerance of rice (*Oryza sativa*) seedling radicles. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50(11): 3232-3235.
30- Stewart R.R., and Bewley J.D. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. Plant Physiology 65(2): 245-248.
31- Strain H.H., and Svec W.A. 1966. Extraction, separation, estimation and isolation of the chlorophylls. The Chlorophylls 1: 22-66.
32- Thipyapong P., Melkonia J., Wolfe D.W., and Steffens J.C. 2004. Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato. Plant Science 167(4): 693-703.
33- Whitaker B.D. 1992. A reassessment of heat stress as a means of reducing chilling injury in tomato fruit. Physiological Basis of Postharvest Technologies 343: 281-282.

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.1, Spring 2021, P. 63-71
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰، ص. ۷۱-۶۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

The Effect of Heat Shock on Chilling Tolerance in 'Khatooni Melon' Seedling (*Cucumis melo* L.)

F. Ghanbari[1]*-S. Akbari[2]
Received: 25-04-2020
Accepted: 10-11-2020

Introduction: Melon, like other members of cucurbitaceae family, is sensitive to cold stress. Applying different cultivation techniques in the nursery can provide some degree of tolerance to environmental stresses in the plants. In the other words, applying stress conditions on plants may cause them to withstand subsequent stresses, this is so called a cross-adaptation or cross-tolerance. For example, Whitaker (1994) showed that cold stress damage can be mitigated by temperature pretreatment. This technique was then used to improve stress tolerance in different plants. In this regard, heat treatment has been used to increase the chilling tolerance in fruits and vegetables. Therefore, in this study, the possibility of increasing cold stress tolerance in melon seedlings using heat shock was investigated.

Materials and Methods: The experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) with three replications and five treatments (including control and spraying with water at temperatures of 20, 45, 50 and 55 °C for 90 seconds) in Faculty of Agriculture of Ilam University in 2019. Heat treatments where used as foliar spray by heated water. After applying different levels of heat treatment and recovery at 24 hours, seedlings were exposed to chilling stress at 3 °C for 6 h in 6 consecutive days. All seedlings were transferred to greenhouse and after 72 hours, the related traits were measured.

Results and Discussion: Results showed that pre-treated seedlings had higher growth rate than control seedlings at the end of chilling period. Heat shock pretreatment significantly increased the content of chlorophyll, proline and hydrogen peroxide and reduced the amount of malondialdehyde compared to the control. The lowest amount of malondialdehyde (1.14 nmol g^{-1} fresh weight) was observed in the 50 °C treatment, which was 50% lower than the control. Similar to other environmental stresses, low temperature usually leads ROS production and oxidative stress. Malondialdehyde content is an index to measure membrane lipid peroxidation and its measurement is a criterion of damage to plants in stress conditions. Reduction of malondialdehyde has been reported to increase cell membrane stability and increase stress tolerance in plants. In the present study, heat shock reduced the accumulation of malondialdehyde compared to the control, indicating a decrease in cold effects on the plant. Mei and Song (2010) investigated the effect of heat pretreatment on increasing high temperature tolerance in barley, and reported that using this method by stimulating the synthesis of antioxidant enzymes prevented the increase of malondialdehyde in the plant under heat stress. Therefore, maintaining the membrane structure and decreasing the accumulation of malondialdehyde in melon seedlings under cold conditions indicates an improvement of plant defense responses induced by heat shock. Environmental stresses including cold stress by producing hydrogen peroxide and other free radicals lead to oxidative stress and damage plant cells. Hydrogen peroxide is converted to water by ascorbate peroxidase, peroxide redoxin, glutathione peroxidase and guaiacol peroxidase groups. Therefore, increasing the activity of antioxidant enzymes in plants is one of the most important mechanisms of the plant to cope with stress conditions. In the present study, heat shock pretreatment significantly increased peroxidase (POD) and poly phenol oxidase (PPO) activity and increased the amount of proline and hydrogen peroxide. In this regard, it has been reported that hydrogen peroxide has a dual role in plants and its increase in stress conditions by regulating the production of antioxidant enzymes helps plants to enhance their tolerance to the stress conditions. Our results is in consistent with Ao *et al.* (2013) report that stated hardening pretreatment of *Jatropha curcas* seedlings caused to increase the antioxidant enzymes activity, plant glutathione and ascorbate content. The increases in antioxidant enzymes activity by heat shock might be a positive mechanism, which facilitate the scavenging of ROS and induce plant growth and development under chilling stress. These results indicate that antioxidant

1 and 2- Assistant Professor and M.Sc. Graduate, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: f.ghanbari@ilam.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhorts4.v35i1.86372

defense system has a specific role in enhancing plant tolerance to stress conditions and hydrogen peroxide play an important signaling role in plant adaptive responses.

Conclusion: In general, the results showed that heat shock (especially at 50 and 55 ºC) caused positive physiological changes in melon seedlings and could increase their tolerance to cold stress conditions.

Keywords: Hydrogen peroxide, Malondialdehyde, Peroxidase, Polyphenol oxidase, Proline